

***Microscopic Agglutination Test* untuk Diagnosis *Leptospirosis* pada Sapi Potong di Kabupaten Bantul dan Kulonprogo**

Microscopic Agglutination Test for Diagnosis of *Leptospirosis* in Beef Cattle from Bantul and Kulon Progo

Susanti

Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor, Jawa Barat
Email : santibadgi99@yahoo.com

Abstract

Leptospirosis is a zoonotic disease caused by bacterial infection, *Leptospira interrogans*. The bacteria usually infect many kinds of wild animals and humans as well. There was an extraordinary outbreak of leptospirosis in humans in Yogyakarta in 2011. Therefore, it is necessary to investigate the seroprevalences of leptospirosis in cows, especially in the districts of Bantul and Kulon Progo in order to determine the possible role(s) of the cows in the spread of leptospirosis among other animals and humans. In this research, the diagnostic method was conducted by using microscopic agglutination test (MAT). Bovine sera samples were obtained from several farms in some areas of the districts of Bantul and Kulonprogo. The MAT was conducted on 150 sera samples of cows from districts of Bantul and was on 200 samples from Kulonprogo. Seroprevalences of *leptospirosis* in the cows were 18.67 % (28/150) and 14.5% (29/200) from Bantul and Kulonprogo districts, respectively. Mostly, serovar *tarassovi*, *hardjo*, *icterohemorrhagiae* and *batavia* were detected in cows from both Bantul and Kulonprogo districts. Antibody titers were obtained ranged from 1:100, 1:400 and 1:1600.

Key words : MAT, leptospirosis, cow, Bantul, Kulonprogo

Abstrak

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh infeksi bakteri, *Leptospira interrogans*. Bakteri tersebut kebanyakan menginfeksi hewan ternak liar maupun manusia. Pada tahun 2011 terjadi wabah *leptospirosis* pada manusia di Yogyakarta sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui dan menentukan seroprevalensi *leptospirosis* pada sapi potong, terutama di kabupaten Bantul dan Kulonprogo terkait dengan kemungkinan peran sapi-sapi tersebut dalam penyebaran *leptospirosis* terhadap ternak lainnya dan juga manusia. Pada penelitian ini, metode diagnosis yang digunakan adalah secara serologis dengan *microscopic agglutination test* (MAT). Untuk uji MAT, digunakan sampel sera sapi yang diperoleh dari peternakan rakyat di beberapa daerah di Kabupaten Bantul (150 sera) dan Kulonprogo (200 sera). Hasil penelitian ini membuktikan, bahwa seroprevalensi *leptospirosis* pada sapi di kabupaten Bantul adalah 18.67% (28/150) dan Kulonprogo adalah 14,5% (29/200). Serovar yang banyak ditemukan pada sapi potong di Kabupaten Bantul dan Kulonprogo adalah *tarassovi*, *hardjo*, *icterohemorrhagiae* dan *batavia*. Titer antibodi yang diperoleh berkisar dari 1:100, 1:400 dan 1:1600.

Kata kunci: leptospirosis, sapi potong, Bantul, Kulonprogo, MAT

Pendahuluan

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis yang sudah lama dikenal di Indonesia. Penyakit tersebut disebabkan oleh infeksi bakteri patogenik genus *leptospira*. *Leptospira* patogenik diklasifikasikan dalam grup *Leptospira interrogans* (OIE, 2008). *Leptospira interrogans* merupakan *leptospira* patogenik utama yang dapat menyebabkan infeksi ke manusia (Adler and Moctezuma, 2010). Ada 20 spesies *leptospira* yang terdiri dari lebih 200 serovar dan bersirkulasi pada hospes atau reservoir hewan, misalnya tikus dan rodensia lainnya, ternak dan hewan kesayangan (Ko AI and Goarant C, 2009). *Leptospira* membutuhkan cuaca lembab untuk daya hidupnya. Rodensia dan hewan domestik (hewan ternak dan anjing) dapat bertindak sebagai *reservoir leptospira* dan dapat ditularkan pada hewan lain ataupun manusia melalui urin yang selanjutnya dapat mencemari lingkungan bersama air hujan dan juga mencemari sumber air minum. Manusia seringkali kontak dengan air yang terkontaminasi *leptospira* selama banjir. Pada umumnya, jumlah kasus *leptospirosis* meningkat selama dan setelah curah hujan tinggi (Chaudhry, 2002)

Penyakit tersebut merupakan penyakit zoonotik yang merugikan nilai ekonomis dan kesehatan masyarakat di Indonesia yang oleh OIE dimasukkan dalam penyakit kelas B, yaitu penyakit yang dianggap penting yang merupakan masalah sosio-ekonomis dan kesehatan umum yang secara signifikan dalam perdagangan internasional hewan maupun produk hewan di suatu negara (Biosecurity Australia, 2000).

Populasi yang terancam infeksi *leptospira* adalah terutama petani/pekerja di sawah, pekerja

saluran kebersihan kota dan rumah potong, serta perawat hewan dan dokter hewan ataupun individu yang berhubungan dengan hewan piara maupun satwa liar. Hewan piara, terutama sapi, babi dan anjing yang paling berperan dalam penyebaran *leptospirosis* ke manusia (Soejoedono, 2004). *Leptospira* juga mampu menginfeksi hewan liar, antara lain: anjing hutan, monyet, rubah, serigala, tikus dan sigung. Selain itu, hewan yang dapat terinfeksi *leptospira* adalah tikus, tupai, domba, kambing, unta dan kucing (Rad *et al.*, 2004).

Pada sapi, gejala klinis *leptospirosis* bervariasi mulai dari yang ringan, infeksi yang tidak tampak, sampai infeksi akut yang dapat menyebabkan kematian. Gejala awal *leptospirosis* pada hewan domestik (ruminansia, babi) adalah aborsi, lahir mati atau lahir lemah. Pada ternak sapi yang bunting, gejala abortus, pedet lahir mati atau lemah seringkali muncul pada kasus *leptospirosis*. Pada umumnya, infeksi *leptospira* akut seringkali terjadi pada pedet atau sapi muda (Hudson, 1978). Pada sapi bunting atau laktasi, *leptospira* menyebabkan demam, mastitis dengan penurunan produksi susu yang drastis sampai 14 hari, perubahan warna susu, leukositosis dalam susu dan aborsi (5-10%) pada 6-12 minggu setelah infeksi (Turner and Stephens, 2008). Berat ringannya gejala klinis *leptospirosis* tergantung pada serovar *leptospira* yang menginfeksi dan imunitas hewan yang terinfeksi (Elli *et al.*, 1986).

Diagnosis *leptospirosis* dilakukan dengan dua cara, yaitu isolasi organisme dan deteksi antibodi anti-*Leptospira*. Isolasi dengan kultur dibutuhkan waktu yang lama, tergantung adanya *leptospira* hidup dan kemampuannya untuk tumbuh pada media. Dengan demikian, untuk konfirmasi diagnosis klinis perlu dilakukan uji serologis di

laboratorium (Brandau *et al.*, 1998; OIE, 2000). Untuk uji MAT digunakan antigen hidup dan merupakan uji serologis yang paling banyak dilakukan sebagai uji referensi terhadap semua uji serologis lainnya. Untuk memperoleh sensitifitas optimum diperlukan antigen yang mewakili semua serogroup yang diketahui ada di daerah hewan bersangkutan ditemukan, dan lebih baik digunakan galur yang mewakili semua serogroup yang diketahui (OIE, 2008). Pada sapi, uji MAT *leptospirosis* tersebut digunakan pada pemeriksaan serologis (Scott-Orr *et al.*, 1980), seroinvestigasi (Ebrahimi *et al.*, 2004; Rocha, 1998) dan seroprevalensi (Ratnam *et al.*, 1994).

Pada tahun 2011, dilaporkan terjadi kejadian luar biasa (KLB) *leptospirosis* pada manusia di Yogyakarta. Berdasarkan data yang ada, pada awal tahun 2011 hingga pertengahan Juni tercatat 112 orang terkena *leptospirosis* dengan korban meninggal 12 jiwa dan mengalami puncaknya pada Maret dengan 38 kasus. Kebanyakan negara tropis merupakan negara berkembang sehingga terdapat kesempatan lebih besar pada manusia untuk terpapar dengan hewan yang terinfeksi disebabkan oleh kontaminasi yang tersebar luas di lingkungan. Lingkungan yang terkontaminasi oleh urin hewan terinfeksi *leptospira* merupakan titik sentral epidemiologis *leptospirosis* (Higgins, 2004). Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui seroprevalensi *leptospirosis* pada sapi potong, terutama di kabupaten Bantul dan Kulonprogo dan peran sapi-sapi tersebut dalam penyebaran *leptospirosis* diantara ternak lainnya dan juga manusia dengan melihat titer antibodi terhadap serovar yang pernah menginfeksi dengan metode MAT.

Materi dan Metode

Sampel darah diambil dari sapi potong milik peternak di beberapa daerah di kabupaten Bantul dan Kulonprogo, Yogyakarta. Serum kemudian dipisahkan dan selama dalam perjalanan ke laboratorium dibawa dalam kondisi dingin (di dalam termos berisi es) dan disimpan pada suhu - 20°C sampai dilakukan pemeriksaan dengan *microscopic agglutination test* (MAT)

Antigen yang digunakan untuk MAT adalah antigen hidup dari biakan *Leptospira interrogans* serovar *icterohemorrhagiae*, *javanica*, *celledoni*, *canicola*, *ballum*, *pyrogenes*, *cynopteri*, *rachmati*, *australis*, *pomona*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *bataviae*, dan *tarassovi*. Kultur yang digunakan berumur 5-9 hari, ditumbuhkan dalam medium EMJH cair dan diinkubasi pada 28-30° C. Konsentrasi antigen adalah $\pm 2 \times 10^8$ *leptospira*/ml.

Serum diencerkan dengan PBS perbandingan 1 : 25, kemudian 50 µl serum tersebut diisikan pada lubang *microplate* dan ditambahkan 50 µl antigen *Leptospira interrogans*. Selanjutnya, diinkubasi pada 28-30° C selama 2 jam. Campuran serum-antigen dipindahkan ke kaca objek (tidak ditutup dengan kaca penutup) dengan diluter dan dibaca dengan mikroskop fase kontras pada pembesaran 100x. Serum yang menunjukkan reaksi 50% aglutinasi atau lebih dilakukan titrasi.

Serum yang menunjukkan reaksi 50% aglutinasi atau lebih pada pemeriksaan pendahuluan kemudian diencerkan dengan PBS perbandingan 1 : 50, 1 : 200, 1 : 800 dan 1 : 3200. Sebanyak 50 µl masing-masing enceran serum tersebut kemudian diteteskan ke dalam lubang-lubang *microplate*, dan masing-masing enceran tersebut ditambah 50 µl

antigen (*Leptospira interrogans*). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 28-30°C selama 2 jam. Pembacaan dilakukan seperti pada pemeriksaan pendahuluan. Titik akhir pembacaan adalah 50% aglutinasi atau lebih (diperkirakan dari jumlah *leptospira* bebas, yaitu 50% atau kurang) dan titer didefinisikan sebagai enceran akhir tertinggi serum dalam campuran serum-antigen yang menunjukkan 50% aglutinasi atau lebih.

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel serum darah sapi yang berasal dari peternakan sapi potong milik rakyat di beberapa daerah di Kabupaten Bantul dan Kulonprogo yang selanjutnya dilakukan uji serologis dengan MAT. Hasil uji MAT dapat dilihat pada Tabel 1; Gambar 1.

Tabel 1. Hasil uji MAT untuk sampel serum sapi dari lapangan

Pengambilan Sampel	Jumlah sampel	Positif	Negatif	Positif serovar
Kabupaten Bantul	150	28	122	<i>icterohaemorrhagiae</i> (9), <i>canicola</i> (1), <i>hardjo</i> (9), <i>batavia</i> (9), <i>tarassovi</i> (12)
Kabupaten Kulonprogo	200	29	171	<i>icterohaemorrhagiae</i> (10), <i>canicola</i> (1), <i>ballum</i> (1), <i>cynopteri</i> (2), <i>australis</i> (1), <i>hardjo</i> (13), <i>batavia</i> (3), <i>tarassovi</i> (3)

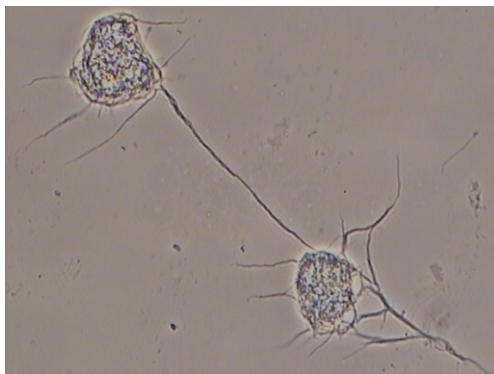
Keterangan : Serovar yang digunakan untuk MAT, yaitu: *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *celledoni*, *canicola*, *ballum*, *pyrogenes*, *cynopteri*, *rachmati*, *australis*, *pomona*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *batavia* dan *tarassovi*

Seroprevalensi *leptospirosis* pada sapi di kabupaten Bantul sebesar 18,67% (28/150) dan Kulonprogo sebesar 14,5% (29/200). Seropositif mengindikasikan, bahwa hewan tersebut pernah terinfeksi *leptospira* dan seronegatif tidak berarti hewan bebas infeksi *leptospira*. Serovar yang banyak ditemukan pada sapi potong di kabupaten Bantul adalah *tarassovi*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae* dan *batavia*, sedangkan serovar di kabupaten Kulonprogo adalah *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *tarassovi* dan *batavia*. *Leptospirosis* pada sapi umumnya disebabkan oleh

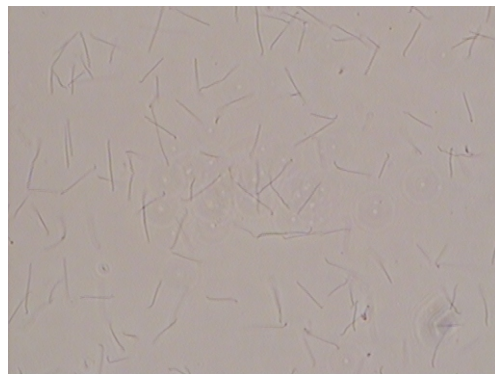
infeksi *L. interrogans* serovar *hardjo*. Serovar tersebut dihubungkan dengan aborsi, lahir mati, lahir lemah, mastitis, penurunan produksi susu dan infertilitas pada ternak (Kocabiyik and Cetin, 2003). Pada penelitian Khalili *et al.* (2014) diketahui, bahwa titer positif pada serum sapi dideteksi terhadap serovar *Leptospira pomona*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira canicola* dan *Leptospira hardjo*.

Hasil MAT juga menunjukkan adanya serum sapi yang positif terhadap serovar *icterohaemorrhagiae* dan *batavia*. Serovar tersebut

banyak ditemukan pada kasus *leptospirosis* pada manusia. Penularan *leptospirosis* hewan ke manusia dapat terjadi secara horizontal, kontak langsung dengan hewan tertular atau lingkungan yang tercemar *leptospira*. *Leptospira* yang dikeluarkan melalui urin hewan terinfeksi dapat mencemari lingkungan dan menjadi sumber penularan untuk hewan lain dan juga manusia (Hunter and Herr, 1994). Sapi dapat terinfeksi beberapa serovar *leptospira* patogenik, meskipun sapi berperan sebagai *maintenance host* untuk serovar *hardjo*.



Organisme masuk ke dalam tubuh melalui kontak pada luka atau membran mukosa dengan urin atau cairan tubuh hewan yang terinfeksi. Hal ini dapat terjadi secara langsung atau tidak langsung melalui kontak dengan air atau tanah terkontaminasi (Levett, 2001). Air adalah sumber utama penyebaran *leptospira* ke lingkungan dan daerah tropis sangat cocok untuk kehidupan serovar *leptospira* (Radostits *et al.*, 2000). Kontaminasi *leptospira* dalam air berperan penting terhadap resiko infeksi *leptospira* ke hewan lain, yaitu: rodensia maupun hewan domestik.



Gambar 1. Hasil *microscopic agglutination test* sampel serum positif (a) dan sampel serum negatif (b) dengan mikroskop fase kontras.

Titer antibodi positif terhadap serovar *leptospira* yang digunakan pada MAT dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Titer antibodi terhadap serovar *leptospira* yang digunakan pada MAT

Serovar	Sampel serum Bantul			Sampel serum Kulonprogo		
	1:100	1:400	1:1600	1:100	1:400	1:1600
<i>Icterohemorrhagiae</i>	7	2	-	6	4	-
<i>Canicola</i>	1	-	-	1	-	-
<i>Ballum</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Cynopteri</i>	-	-	-	1	1	-
<i>Australis</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Hardjo</i>	4	3	2	10	1	2
<i>Batavia</i>	5	4	-	3	-	-
<i>Tarassovi</i>	6	6	-	3	-	-

Titer antibodi terhadap serum positif bervariasi dari 1:100, 1:400 dan 1:1600. Satu serum yang diperiksa dengan MAT dapat bereaksi positif terhadap beberapa serovar yang digunakan dalam uji. Kenaikan titer antibodi pada uji ulangan dengan sapi yang sama dua minggu setelah pemeriksaan pertama dapat digunakan sebagai indikasi adanya infeksi *leptospira*. Sapi berperan sebagai *reservoir* penting untuk transmisi infeksi ke manusia karena mengekskresikan *leptospira* hidup di dalam urin ke lingkungan untuk periode yang lama (Ellis, 1994).

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dinas Peternakan, Perikanan dan Kelautan Kabupaten Bantul dan Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Kulonprogo yang telah membantu dalam pengambilan sampel serum sapi dan juga kepada peneliti dan teknisi Laboratorium *Leptospira*, Bagian Bakteriologi, Balai Besar Penelitian Veteriner atas kerjasamanya.

Daftar Pustaka

- Adler, B. and de la Pena Moctezuma, A. (2010) *Leptospira* and *leptospirosis*. *Vet. Microbiol.* 140: 287-296.
- Anonim. 2011. <http://regional.kompas.com/read/2011/06/22/22/313462/112>. Diakses pada tanggal 10 Mei 2014
- Brandau, A.P., Camargo, E.D., da Silva, E.D., Silva, M.V. and Abrao, R.V. (1998) Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis. *J. Clin. Microbiol* 36: 3138-3142
- Biosecurity Australia (2000) A scientific review of *leptospirosis* and implications for quarantine policy. Biosecurity Australia. Agriculture, Fisheries, and Forestry. Australia
- Chaudhry, R., Premalatha, M.M., Mohanty, S., Dhawan, B., Singh, K.K. and Dey, A.B. (2002) Emerging *leptospirosis* North India. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 1526-1527.
- Ebrahimi, A., Nasr, Z. and Kojouri, G.A. (2004) Seroinvestigation of *bovine leptospirosis* in Shahrekord district, central Iran. *Iranian J. Vet. Res. Univ. Shiraz.* 5: 110-113.
- Ellis, W.A., O'Brien, J.J., Nell, S.O. and Bryson, D.G. (1986) *Bovine leptospirosis*: Experimental serovar *hardjo* infection. *Vet. Microbiol.* 11: 293-299.
- Ellis, W.A. (1994) *Leptospirosis* as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North Am.* 10: 463-478.
- Higgins, R. (2004) Emerging or re-emerging bacterial zoonotic disease: *Bartonellosis*, *leptospirosis*, *lyme borreliosis*, *plague*. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 23: 569-581.
- Hudson, D.B. (1978) *Leptospirosis* of domestic animals. [http://www.ianrpubs.unl.edu/Leptospirosis of Domestic Animals/g78-417.htm](http://www.ianrpubs.unl.edu/Leptospirosis%20of%20Domestic%20Animals/g78-417.htm).
- Hunter, P. and Herr, S. (1994) *Infectious disease of livestock*. Cape Town Oxford New York. Oxford University Press, Oxford.
- Khalili, M., Sakhaee, E., Aflatoonian, M.R., Abdollahpour, G., Tabrizi, S.S., Damaneh, E.M. and Nasab, S.H. (2014) Seroprevalence of bovine leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in Southern of Iran. *Asian Pacific J. Trop. Biomed.* 4: 354-357.
- Ko, A.I., Goarant, C. and Picardeau, M. (2009) *Leptospira*: The dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 7: 736-747.
- Kocabiyyik, A. L. and Cetin, C. (2003) Detection of antibodies to *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* by the microscopic agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay in cattle sera. *Indian Vet. J.* 80: 969-971.

- Levett, P.N. (2001) Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 296-326.
- Office International Des Epizooties. (2000) *Leptospirosis*. In: Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. Office International des Epizooties, Paris, France.
- OIE. (2008) Leptospirosis. OIE Terrestrial Manual 2008. <http://www.oie.int/ENG/normes/mmanual/2008/pdf/2.01.09>.
- Rad, M. A., Zeinali, A., Vand, J., Yousofi, A., Tabatabayi, H. and Bokaie, S. (2004) Seroprevelence and bacteriological study of canine leptospirosis in Tehran and its suburban areas. *Iranian J. Vet. Res. Univ. Shiraz.* 5: 73-80.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000) Veterinary medicine. 9th ed. W.B. Saunders, Baltimore, USA.
- Ratnam, S., Everard, C.O.R. and Alex, C. (1994) A pilot study on the prevalence of leptospirosis in Tamilnadu State. *Indian Vet. J.* 71: 1059-1063.
- Rocha, T. (1998) A review of *leptospirosis* in farm animals in Portugal. *Rev. Sci. Tech. Off. In. Epiz.* 17: 699-712.
- Scott-Orr, H., Darodjat, M., Achdijati, J. dan Soeroso, M. (1980) Kejadian *leptospirosis* dan *brucellosis* pada ternak di Indonesia. *Risalah (Proceedings) Seminar Penyakit Reproduksi dan Unggas. Tugu Bogor 13-15 Maret 1980*. LPPH - Puslitbangnak, Deptan.
- Soejoedono, R.R. (2004) *Zoonosis*. Laboratorium KESMAVET. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.